Aus der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning

# Zur Beeinflussung der Serumantikörperbildung durch Zytostatika

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

Vorgelegt von:
**Samson Stafilidis**
Arzt in Erlangen

D 29

1962 N 406

Dekan: Prof. Dr. Theissing

Referent: Prof. Dr. N. Henning

Tag der mündl. Prüfung: 8. 10. 1963

Med. exp. 7: 45–50 (1962)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. Henning)

# Zur Beeinflussung der Serumantikörperbildung durch Zytostatika

Von W. Frenger, S. Witte und S. Stafilidis

Mit der klinischen Bedeutung des Transplantationsproblems stellte sich zugleich die Frage, wie die nach Gewebetransplantation gesetzmäßig eintretende körpereigene Abwehr zu beeinflussen ist. Bekanntlich wird homologes oder heterologes Gewebe- und Zellmaterial als Antigen empfunden und bei Transplantation eine spezifische Antikörperbildung induziert. Nach einer stets etwa gleichen Latenzzeit, die sich beim Zweittransplantat verkürzt, wird das übertragene Gewebe durch die Antikörperwirkung abgestoßen (Literatur im einzelnen bei *Albert und Medavar* [1]). Um eine Toleranz zu erreichen, hatten die bisherigen Untersuchungen zum Ziel, die spezifische Antikörperbildung zu verhindern oder zumindest abzuschwächen. Relativ sicher gelingt dies auf Grund experimenteller Erfahrungen bei manchen Species mit einer hochdosierten Ganzkörper-Röntgenbestrahlung. Dieser Maßnahme haften jedoch große Nachteile an. Es lag deshalb nahe zu prüfen, ob auch mit chemotherapeutischen Substanzen eine Blockade des antikörperproduzierenden Systems möglich ist. Hierfür boten sich zytostatisch wirksame Substanzen an. Nachdem *Schwartz* et al. (8, 9) sowie *Mecker* et al. (6) festgestellt hatten, daß das 6-Mercaptopurin eine hemmende Wirkung auf die Antikörperbildung entfaltet, war es von Interesse zu wissen, ob dies ganz allgemein für Zytostatika zutrifft; so vor allem nicht nur für Antimetaboliten, sondern auch für alkylierende oder mitosehemmende Substanzen.

## *Material und Methodik*

Zur Überprüfung einer Hemmung der Antikörperbildung durch Zytostatika wählten wir das Modell der heterologen Hämagglutininbildung durch die

Eingegangen: 19. Juni 1962.

Applikation von menschlichen Erythrozyten. Außerdem erhielten die betreffenden Tiere 1. Trisaethyleniminobenzochinon (Trenimon)[1] als alkylierende Substanz und 2. Vincaleukoblastine[2] als Mitosehemmer.

Methodisch wurde wie folgt vorgegangen: 4 Gruppen von Kaninchen — je Gruppe mit 6 Tieren — erhielten gewaschene menschliche Erythrozyten in 20%iger Suspension, beginnend mit 5 ml pro Tier und fallend bis zu einer Dosis von 0,5 ml, insgesamt 6–8 Injektionen. In bestimmten Abständen (1 Woche) wurde Blut entnommen und der Hämagglutinintiter gegenüber den verwendeten Humanerythrozyten nach Inaktivierung des Tierserums bestimmt. Die 1. Tiergruppe erhielt zusätzlich jeden 2. Tag 35 mg Trenimon pro Tier intravenös, 5 Wochen lang. Die zweite Gruppe bekam neben den Erythrozyten Vincaleukoblastine (0,5–0,2 mg, also in fallender Dosis) für die gleiche Zeit und im gleichen Modus. Mit der Gabe dieser Zytostatikadosen wurde bereits kurz vor Beginn der Sensibilisierung begonnen. Wie vorher festgestellt war, wurde diese Dosis noch von den Tieren toleriert. Der Hämagglutinintiter wurde knapp 2 Monate lang ermittelt. Gruppe 3 und 4 dienten als Kontrollgruppen.

Wir wählten dieses Versuchsmodell, da die Immunisierung mit Zellen den Verhältnissen, z. B. bei der Knochenmarktransplantation, nahekommt, die klinischerseits besonderes Interesse beansprucht.

## *Ergebnisse*

In den einzelnen Tiergruppen wurde durch diesen Sensibilisierungsmodus mit großer Sicherheit eine Hämagglutinin- bzw. Antikörperbildung induziert. Das zeitliche Verhalten des Antikörpertiters in den einzelnen Gruppen geht aus den beigefügten Abbildungen hervor. Unter der gleichzeitigen Applikation von Trenimon zeigte der Antikörpertiter einen Verlauf, wie er in Abb. 1 graphisch dargestellt ist. Wie hieraus ersehen werden kann, war eine statistisch zu sichernde Abweichung des Hämagglutinintiters von dem der Kontrolltiere unter Trenimon nicht festzustellen. Sofern eine direkte Übereinstimmung fehlte, fielen die Titerwerte der mit dem Zytostatikum behandelten Tiere in den Streubereich der Werte der Kontrolltiere. Ein praktisch gleiches Verhalten ließen die Hämagglutinintiter auch unter Verabreichung von Vincaleukoblastine erkennen. Diese sind, zusammen mit den Titerwerten der Kontrolltiere, in Abb. 2 dargestellt. (In den Abbildungen sind jeweils die Mittelwerte der Titer von 6 Tieren mit der Streuung der Einzelwerte eingetragen. Die Titer sind im $^2$log angegeben.)

Diese Untersuchungsergebnisse zeigen insgesamt, daß tierexperimentell unter der Applikation einer subletalen Dosis der

[1] Bayer, Leverkusen.

[2] Lilly, Indianapolis.

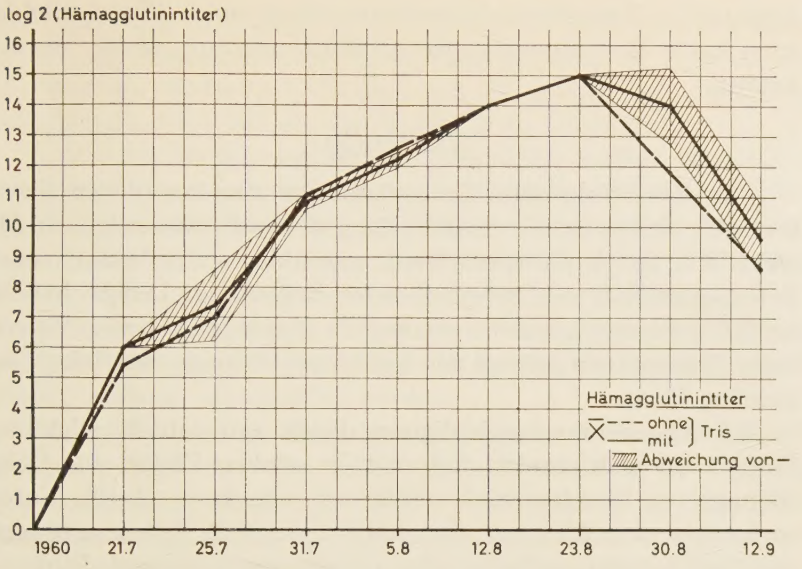


*Abb. 1.* Verhalten des Hämagglutinintiters unter Trisbehandlung im Ablauf des Sensibilisierungsprozesses.

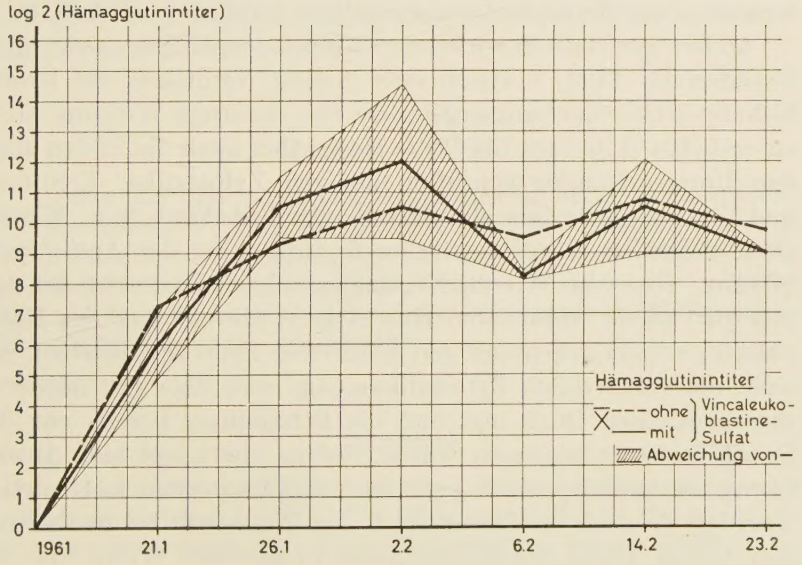


*Abb. 2.* Verlauf des Hämagglutinintiters unter der Behandlung mit Vincaleukoblastine (jeweils mit Kontrollen).

Zytostatika Trisaethyleniminobenzochinon und Vincaleukoblastine keine Beeinflussung der Antikörperbildung erzielt werden konnte.

*Diskussion*

Für den Erfolg einer Transplantation von homologen Geweben oder Zellen ist die Ausschaltung der individuumeigenen Abwehr, d. h. der Antikörperbildung, gegenüber individuumfremden Gewebematerial, von entscheidender Bedeutung. Lediglich beim Antikörpermangelsyndrom vermag ein homologes oder gar heterologes Transplantat infolge der Antikörperbildungsinsuffizienz anzugehen (3, 5).

Bei Knochenmarksschädigung durch zytostatisch wirksame Stoffe hatte sich gezeigt, daß auch in solchen Fällen eine Übertragung von Knochenmark erfolgreich sein kann (2, 10). Untersuchungen der Wirkung von 6-Mercaptopurin ließen erkennen, daß diese Substanz offenbar eine nukleinsäurehemmende Wirkung entfaltet (6, 8), d. h., daß die Synthese von Ribonukleinsäure als Proteinmatrize gehemmt oder fehlgesteuert wird, wodurch die Produktion von Antikörpern vermindert ist. Jedenfalls konnte man feststellen, daß unter der Applikation dieses Stoffes die Überlebenszeit eines Transplantates wesentlich verlängert wird (6, 8).

Andere zytostatisch wirksame Chemotherapeutica, so ein Myeleranderivat, TEM, Cortison oder N-Lost, vermögen auf Grund bisheriger Untersuchungsergebnisse eine derartige Wirkung nicht zu entfalten (Literatur bei *Witte* [11]). Aber auch die in den eigenen Untersuchungen geprüften neueren Zytostatika, Trenimon und Vincaleukoblastine als Vertreter der Ruhekern- bzw. Mitosegifte, ließen im Experiment eine Beeinflussung der Antikörperbildung vermissen. Wie die Ergebnisse zeigen, war unter der Applikation dieser Substanzen eine sichere Abweichung des Hämantikörpertiters gegenüber den Kontrollen nicht festzustellen, obwohl die verabreichte Zytostatikamenge weit über der mittleren therapeutischen Dosis lag, und die Behandlung bereits vor der Sensibilisierung begonnen wurde. Sofern überhaupt eine Abweichung im Antikörpertiter gegenüber den Kontrollen festzustellen war, lag sie noch im Streubereich der Titerwerte bei den einzelnen Tieren. Diese Ergebnisse lassen in gewisser Weise eine Erklärung für die experimentellen und klinischen Erfahrungen bei der homologen Knochenmarktransplantation nach Verabreichung

von Zytostatika zu. Hierbei kommt es zumeist nach einer gewissen Latenz zur Elimination der übertragenen Zellen (4), jedoch erscheinen die bisherigen Erfahrungen zu gering, um definitive Schlußfolgerungen für die Klinik ziehen zu können.

Neben den bereits angeführten Zytostatika wurden von *de Nicola und Fumarola* (7) weitere derartige Substanzen auf ihre antikörperhemmende Funktion untersucht. Im Gegensatz zu den oben angeführten Ergebnissen haben die Autoren für Colchicinderivate, N-Lost, E 39, Actinomycin und Teropterin eine Wirkung festgestellt. Sie dokumentierte sich in einer Verzögerung der Bildung und der Titerhöhe der Antikörper. In keinem Falle konnte diese jedoch vollends unterdrückt werden.

Überblickt man die bisherigen Ergebnisse, so darf der Schluß gezogen werden, daß eine komplette Unterdrückung der Bildung von Antikörpern durch Zytostatika nicht möglich ist. Eine Bildungshemmung scheint durch einzelne Zytostatika erreichbar zu sein; die meisten zeigen dagegen keine Wirkung. Wenn eine Hemmung der Antikörpersynthese zu erzielen ist, so verlangt dies weit über der Norm liegende Dosen. Diese Tatsache dürfte, abgesehen hier von anderen Problemen, den Wert der klinischen Anwendungsmöglichkeit solcher Zytostatika zur Erreichung der Toleranz eines homologen Transplantates (oder von homologem Knochenmark) erheblich mindern.


## *Zusammenfassung*

Es wird über experimentelle Untersuchungen zur Frage der Beeinflussung der Antikörperbildung durch Zytostatika berichtet. Die in diesem Rahmen geprüften Substanzen Trisaethyleniminobenzochinon und Vincaleukoblastine hatten keinen Einfluß auf das Ausmaß der Antikörperproduktion. Die Bedeutung dieser und der in der Literatur niedergelegten Erfahrungen im Hinblick auf das Transplantationsproblem wird diskutiert.

## *Summary*

An experimental investigation of the influence of cytostatic drugs on antibody formation is reported. The substances studied in this respect, triethylene-iminobenzoquinone and vincaleukoblastine, had no effect on the extent of antibody formation. The significance of this and of previously published findings for the problem of transplantation is discussed.

## *Résumé*

Les auteurs rapportent leurs recherches expérimentales relatives à l'influence exercée par les cytostatiques sur la formation des anticorps. Deux substances appartenant à cette série, la triéthylène-imino-benzoquinone et la vincaleucoblastine n'ont aucune influence sur l'ensemble de la production d'anticorps. L'importance de ce résultat et de ceux rapportés dans la littérature au point de vue du problème de la transplantation se trouve discutée.


## *Literatur*


1. *Albert, F.* and *Medawar, P. B.:* Biological problems of grafting. A Symposium (University-Press, Oxford 1959).
2. *Beilby, J. O. W.; Cade, I. S.; Jelliffe, A. M.; Parkin, D. M.* and *Stewart, J. W.:* Prolonged survival of a bone-marrow graft resulting in a blood-group chimera. Brit. med. J. *96:* (1960).
3. *Domy, C.:* zit. nach 11. Clin. Res. *7:* 58 (1959).
4. *Floersheim, G. L.* und *Elson, L. A.:* Wiederherstellung der Hämatopoese nach letaler Dosis von Dimethyl-Myleran durch isologe Knochenmarktransplantation bei Mäusen. Versuche zur Beeinflussung der Intoleranz gegenüber homologem Knochenmark durch 6-Mercaptopurin, Aminochlorambucil und Cortison. Acta haemat. *26:* 233 (1961).
5. *Good, R. A.* and *Varco, R. L.:* Successful homovital transplantation in Agammaglobulinemia. J. Clin. Invest. *34:* 910 (1955).
6. *Mecker, W.; Condie, R.: Weiner, D.; Varco, R. L.* and *Good, R. A.:* Prolongation of skin homograft survival in rabbits by 6-mercaptopurine. Proc. Soc. exp. Biol., N.Y. *102:* 459 (1959).
7. *de Nicola, P.* und *Fumarola, D.:* Die Wirkung der Cytostatica auf die Bildung von Antikörpern. Arzneimittelforsch. *9:* 27 (1959).
8. *Schwartz, R.* and *Dameshek, W.:* The effect of 6-mercaptopurine on homograft reactions. J. clin. Invest. *39:* 952 (1960).
9. *Schwartz, R.; Stack, J.* and *Dameshek, W.:* Effect of 6-mercaptopurine on antibody production. Proc. Soc. exp. Biol., N.Y. *99:* 164 (1958).
10. *Witte, S.; Schricker, K. Th.* und *Maurer, W.:* Die Behandlung der zytostatisch bedingten hämatologischen Nebenwirkungen durch Knochenmarktransfusion. Münch. med. Wschr. *1251:* (1960).
11. *Witte, S.:* Knochenmarktransplantation. Blut *4:* 432 (1960).


Adresse der Autoren: Dr.W. Frenger, Doz. Dr. S.Witte und S.Stafilidis, Medizinische Klinik mit Poliklinik der Universität Erlangen-Nürnberg, Innere und Nervenkrankheiten, Krankenhausstraße 12, *Erlangen* (Deutschland).

## Lebenslauf.

Am 21. 4. 1934 wurde ich als Sohn des Landwirts Anastasios Stafilidis und seiner Ehefrau Katerina S., geb. Kokosidu, in Karabia-Thessaloniki/Griechenland geboren.
Nach sechsjährigem Besuch der Volksschule, besuchte ich das Aristoteles Gymnasium zu Thessaloniki von dem mir nach weiteren sechs Jahren das Reifezeugnis ausgestellt wurde.
Im Sommer-Semester 1955 schrieb ich mich in die medizinische Fakultät der Universität zu Wien ein. Dort habe ich vier Semester studiert.
Während dieser vier Semester habe ich alle Vorlesungen besucht und alle erforderlichen Scheine bekommen. Auch das erste Rigorosum in Physik habe ich bestanden.
Da ich mein Studium teilweise als Werkstudent finanzieren mußte, hielt ich es für günstiger nach Deutschland zu kommen, wo man bekanntlich leichter Arbeit finden kann.
Im Mai 1957 immatrikulierte ich mich in die medizinische Fakultät der Universität Erlangen.
Neben dem Studium habe ich viele Berufe als Werkstudent ausgeübt und dadurch viele Menschen mit verschiedenen Charakteren kennengelernt, was für den ärztlichen Beruf sicher von Bedeutung ist.
Auf Grund von finanziellen Schwierigkeiten habe ich mich für das Sommer-Semester 1958 beurlauben lassen.
Am 29. 9. 59 bestand ich die ärztliche Vorprüfung.
Ab 1. April 1961 bis Ende März 1962 war ich Stipendiat des Bayerischen Staatsministeriums für Unterricht und Kultus.
Ab April 1962 bis zur Beendigung des Staatsexamens mußte ich wiederum mein Studium selbst finanzieren.
Im Sommer-Semester 1963 habe ich mein Staatsexamen abgelegt.

Samson Stafilidis

Erlangen, den 1. Oktober 1963